



⑮ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 101 27 572 A 1**

⑤① Int. Cl.⁷:
C 12 Q 1/68
A 61 K 48/00

⑳ Aktenzeichen: 101 27 572.2
㉔ Anmeldetag: 30. 5. 2001
㉕ Offenlegungstag: 5. 12. 2002

DE 101 27 572 A 1

㉚ Anmelder:
PathoArray GmbH, 10117 Berlin, DE

㉚ Erfinder:
Häupl, Thomas, Dr., 15537 Gosen, DE; Ungethüm,
Ute, Dr., 10115 Berlin, DE; Bläß, Stefan, Dr., 12107
Berlin, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Der Inhalt dieser Schrift weicht von den am Anmeldetag eingereichten Unterlagen ab

⑤④ Werkzeuge zur Diagnostik, molekularen Definition und Therapieentwicklung chronischer entzündlicher Gelenkerkrankungen

⑤⑦ Die Erfindung betrifft Werkzeuge zur Diagnostik, molekularen Definition und Therapieentwicklung chronischer entzündlicher Gelenkerkrankungen und anderer entzündlicher, infektiöser oder tumoröser Erkrankungen auf der Grundlage von Genomdaten, Proteomdaten und Immunomdaten in der Analyse und Therapieentwicklung bei chronischen Gelenkerkrankungen. Die Erfindung beruht auf der Verwendung von Gensequenzen, abgeleiteten mRNAs und abgeleiteten Proteinen für die Charakterisierung von Gelenkerkrankungen, Entwicklung ätiologisch bedeutsamer Pathogenitätsprinzipien bei den bislang ungeklärten chronisch entzündlichen Gelenkerkrankungen und den Aufbau von Interpretationsalgorithmen zur Klassifikation, Prognosebeurteilung und Therapieoptimierung dieser Gelenkerkrankungen.

DE 101 27 572 A 1

[0001] Die Erfindung betrifft Werkzeuge zur Diagnostik, molekularen Definition und Therapieentwicklung chronischer entzündlicher Gelenkerkrankungen und anderer entzündlicher, infektiöser oder tumoröser Erkrankungen auf der Grundlage von Genomdaten (Genomics), Proteomdaten (Proteomics) und Immunomdaten (Immunomics) in der Analyse und Therapieentwicklung bei chronischen Gelenkerkrankungen. Die Erfindung beruht auf der Verwendung von Gensequenzen, abgeleiteten mRNAs und abgeleiteten Proteinen für die Charakterisierung von Gelenkerkrankungen, Entwicklung ätiologisch bedeutsamer Pathogenitätsprinzipien bei den bislang ungeklärten chronisch entzündlichen Gelenkerkrankungen und den Aufbau von Interpretationsalgorithmen zur Klassifikation, Prognosebeurteilung und Therapieoptimierung dieser Gelenkerkrankungen. Ferner lassen sich neue Therapiestrategien und Angriffspunkte für Medikamente ableiten.

[0002] Chronisch entzündliche Gelenkerkrankungen sind ätiologisch nicht geklärt. Die rheumatoide Arthritis ist der klassische Vertreter dieser Erkrankungen. Wesentliche Krankheitsabläufe finden in der entzündlich veränderten Synovialmembran statt und führen zur chronischen Gelenkschädigung. Es werden Fehlregulationen in der Entzündungskaskade als hauptverantwortliche Pathomechanismen diskutiert. Ferner werden Autoimmunreaktionen beschrieben, die eine Beteiligung des spezifischen humoralen und zellulären Immunsystems am Krankheitsprozeß nahelegen. Die entzündlichen Gelenkerkrankungen sind neben der vorwiegenden Gelenkschädigung aber auch systemische Erkrankungen, bei denen zahlreiche Veränderungen im Blut beobachtet werden sowie weitere Organmanifestationen auftreten können.

[0003] Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, chronisch entzündliche Gelenkerkrankungen besser erkennbar und behandelbar zu machen. Die Aufgabe wurde durch die Bereitstellung von Werkzeugen zur Diagnostik, molekularen Definition und Therapieentwicklung chronischer entzündlicher Gelenkerkrankungen und anderer entzündlicher, infektiöser oder tumoröser Erkrankungen gelöst. Die erfindungsgemäßen Werkzeuge zur Erkennung und Behandlung entzündlicher Erkrankungen beim Menschen beruhen auf der Verwendung der Sequenzen einzelner Gene, einer Auswahl von Genen oder aller Gene, die in der Tabelle 1 genannt sind sowie der Gene, die für die Proteine, die in der Tabelle 2 genannt sind, codieren.

[0004] Es wurde das Synovialgewebe analysiert hinsichtlich der Genexpression mittels DNA-Chip und semiquantitativer PCR (real-time PCR) und Vergleiche zwischen Geweben bei verschiedenen Gelenkerkrankungen und Normalgeweben vorgenommen. Es wurden differentielle Genexpressionsanalysen mittels subtraktiver Methoden wie der "representational difference analysis" durchgeführt. Ferner wurden Gewebe histologisch charakterisiert und entsprechend der histologischen Einteilung in ihrem differentiellen Genexpressionsmuster verglichen. Es wurden die nachfolgend unter 4. aufgeführten Gene als bedeutsam für die Charakterisierung von chronischen Gelenkerkrankungen gefunden:

[0005] Die Erfindung eignet sich zur Entwicklung biologisch wirksamer Medikamente (Biological/s) unter Verwendung von Genen, Gensequenzen, Regulation von Genen oder Gensequenzen, oder unter Verwendung von Proteinen, Proteinsequenzen, Fusionsproteinen nach Ansprüchen 1–3, 8–11, oder unter Verwendung von Antikörpern oder autoreaktiven T-Zellen nach Ansprüchen 13–15.

DE 101 27 572 A 1

Zusammenstellung der Gene

Tabelle 1

Gene	Acc.-Number
Ig rearranged κ chain (VJ regions)	M29469
Ig λ -chain (const. region)	X57809
natural killer cell receptor p58	AJ000542
cytokine receptor EBI 3	L08187
Adducin 1 α	X58141
elongation factor 2	M19997
ribosomal protein L19	X63527
L1 element	U93569
HLA DRB1	X88971
Annexin II	NM004039
Gp36	U10362
integral membrane protein E16	M80244
II56KD	M24594
fibulin 1 isoform D - precursor	U01244
collagen I α 1	XM012651
collagen III α 1	X15332
fibronectin	X02761
Annexin II	NM004039
fibronectin	X02761
Cathepsin K	NM000396
Cathepsin B	NM001908
Nebulin	X58122
Myoglobin	NM005368
α Actin	AF182035
myosin light chain	AF182035
TIMP-3	NM000362
megakaryocyte stimulating factor	U070136
ribosomal protein S13	L01124
glutathion peroxidase 3	NM002084

	Gene	Acc.-Number
5	c-myc	X54629
	mitochondrial mRNA	X62996
	Cathepsin B	L16510
10	IGFB5	M65062
	IL1B	M15330
	Mac2	L13210
15	MSF	U070136
	Stromelysin-MMP3	X05232
20	TNF α	M10988
	VDUP1	NM006472
	BMP4	M22490
25	SDF1	NM0006091
	MMP1	X0523
30	CXC	AF005058
	GKLF	AF105036
	BIP	AF216292
35	HDCMB07P/PCM-1	AF068293
	HNRNP GP43	AL034397
40	SEMA5A	NM003966
	SLC	NM002989
	TSG6	M31164
45	EMP3	X94771
	PMP22	X65968
50	CORO1A/ p57	U34690
	KIAA0618	AB014518
	EBI1/CCR7	L31581
55	SEMA3C	AB000220
	IG-ALPHA2-C REGION	AA806239
60	TGFB-BP4	NM 003573
	AK1	AB021871
	GADD45B MYD118	NM015675
65	Mysin light polypeptid2	NM007016

Gene	Acc.-Number	
P4HB Prolyl 4- hydroxylase	M22806	5
Integrin alpha 5 subunit	X06256	
GOS3	L49169	
Ferritin L	Y09188	10
pHL-1 gene	X54629	
EBI1-CCR7	L31584	15
SEMA5A	U52840	
OSTP (Osteopontin)	M83248	
SCYA21	AB002409	20
Histon H1 family	X03473	
TRE-2	X63596	25
Metallomethionein	NM 002450	
GOS 24 /Zinkfingerprotein	M92843	
EGR1	R75775	30
TGFβ-induc early growth response 2	AA427597	
Jun B	NM002229	35
latent transforming growth factor beta binding prot. LTBP4	XM 008868	
Clustrin / SP40	X14723	
CSNK1A1	AF218004	40
SCYA3 (MIP α) /GOS19	X03754	
ICAP-1A	AI 799757	45
EBI1-Ligand chemokine	AB000887	
RANTES (T cell)	M21121	
MB-1 gene (CD79a-B cell)	U05259	50
Ig heavy chain variable region	U80114	
chemokine alpha 3 (CKA3)	U81234	55
IL2 rec gamma chain	D11086	
LPAP gene	X97267	
T lymphocyte specific protein kinase p56lck	U23852	60
Hypothetical protein	AA522530	
CA12	AF037335	65
RETL 2	U97145	

	Gene	Acc.-Number
5	CD3-Ag	AA919102
	CD27 (T cell activ. gene)	M63928
	OBF-1	Z49194
10	GABBR1	AL031983
	AREB6	D15050
	Ig lambda chain V-J-C region	X92997
15	Metallothionein (MT1G)	J03910
	T-Zell Rez. zeta chain	J04132
20	TGase	M55153
	T cell rec alpha chain	M12959
	osteopontin	J04765
25	Calcium activated potassium channel (KCNN3)	AF031815
	EBI1 exon 3	L31584
	melanom stim activity (MGSA)	X54489
30	IL7R	AF043129
	TCF-1	X59871
35	Glial derived nexin precursor	A1743134
	disintrigin protease	Y13323
	pim 2 protooncogene	U77735
40	chitinase	U58515
	serin protease like mRNA	M17016
45	HLA-D II beta chain	X03066
	CD 19 (B cell)	M28170
	Rad RNA	L24564
50	MAO A	M68840
	TIMP-4	U76456
	Angiotensin II rec type 1b	D13814
55	IMAGE 745750	AA420624
	desmine gene	M63391
60	HSP 70 B	X51757
	titin	X69490
65	breast carcinoma fatty acid synthetase	U29344

Gene	Acc.-Number	
leukemia zink finger PLZF	AF0605668	5
activating transcription factor ATF3	L19871	
Apolipoprotein D	J02611	
ADH 1 gamma (ADH3)	M12272	10
1 glycerol-3-phosphate NAD oxoreductase	L34041	
EDN1	J05008	15
PCK1	L12760	
vascular endothelial growth factor	M63978	
human histone H1	X03473	20
Transferrin	S95936	
DBY altern transcript 2	AF 000984	25
Procarboxypeptidase B	M81057	
FKBP54	U42031	
GLC1A	Z97171	30
Myoglobin exon 1	X00371	
Elongation factor 1 alpha 2	X70940	
Breast epithelium brush-1 tumor	S69790	35
DRAP1	U41843	
FRAP1	AL049653	40
IMAGE 249058	AW006742	
Testicular inhibin beta subunit/TGFβ family	M31682	
C97A-12	AF009767	45
TNF alpha	X02910	
INSP3KN	Y11999	50
KIAA0935	AB023152	
MAGP-2	U37283	
Myosin light chain 3	X05451	55
FEN1	AC004770	
Retina cDNA	W26480	60
Adrenomedullin precursor	D14874	
ARH6	M12174	
Gadd45	M60974	65

	Gene	Acc.-Number
5	Protein tyrosinphosphatase	U27193
	TLS/CHOP	S62138
	Fra-2	X16706
10	Calretinin	X56667
	IMAGE 15941	H15814
	BCR	U07000
15	MAFF	AL021977
	cornified envelope precursor	AF 001691
20	CDO-1	U80055
	SPI-B	X66079

Zusammenstellung der Proteine

Tabelle 2

- 30 BiP, Heavy Chain Binding Protein
 Citrullinierte Peptide
 Sa Antigen
 RA33/hnRNP A2, heterogenous ribonucleoprotein particle
 Calpastatin
 35 Calreticulin
 p205
 Fiaggrin
 DnaJ
 IgG, Immunoglobulin G
 40 Hsp60, Heatshock Protein 60
 EBNA-1, Epstein Barr Virus Nuclear Antigen-1
 IR-3, Internat Repeat Region (in EBNA-1 u. a. Proteinen)
 HC gp39, Human Cartilage Glycoprotein 39
 Typ II Collagen
 45 CH65, Chondrocyte Antigen 65
 RA-A47, Arthritis-related antigen, Colligin-2 Genprodukt
 Hsp47, Heatshock Protein 47
 YKL-39, human cartilage-related protein
 Aldolase A
 50 Cartilage Link Protein
 MMP-19, Matrix Metalloproteinase-19
 Human Aggrecan
 Ezrin
 Radixin
 55 Moesin
 [0006] Die Erfindung betrifft:

1. Werkzeuge zur Diagnostik, molekularen Definition und Therapieentwicklung chronischer entzündlicher Gelenkerkrankungen und anderer entzündlicher, infektiöser oder tumoröser Erkrankungen beim Menschen unter Verwendung der Sequenzen einzelner Gene, einer Auswahl von Genen oder aller Gene, die in der Tabelle 1 genannt sind, sowie der Gene die für die Proteine, die in der Tabelle 2 genannt sind, codieren.
2. Werkzeuge nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sie Gensequenzen einbeziehen, die in ihrer Sequenz identisch zu den in der Tabelle 1 genannten Genen bzw. zu den Genen, die für die in der Tabelle 2 genannten Proteine codieren, sind oder mindestens 80% Sequenzidentität in den Protein-kodierenden Abschnitten besitzen.
3. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass sie Sequenzabschnitte oder Teilsequenzen einbeziehen, die in ihrer Sequenz identisch sind zu den in der Tabelle 1 genannten und unter Anspruch 2 fallenden Genen, oder eine Sequenzidentität von mindestens 80% zu den entsprechenden Abschnitten der genannten Gene besitzen.

4. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung eines
 - 4.1. High-Throughput Verfahrens der (Micro-)Array-Hybridisierung,
 - 4.2. High-Throughput Verfahrens mit Techniken der Polymerase-Ketten-Reaktion zur (Semi-)Quantifizierung, beruhen.
5. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung einer markierten Patientenprobe und einer zweiten unterschiedlich markierten Kontrollprobe zur vergleichenden Doppel-Hybridisierung an einen (Micro-)Array zusammen mit der Patientenprobe (rot/grün Vergleichs-Hybridisierung) beruhen. 5
6. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 für diagnostische Zwecke, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung einzelner, einer Auswahl oder aller aus den Gensequenzen in Anspruch 1 bis 3 abgeleiteten Proteine bzw. Peptide beruhen. 10
7. Werkzeuge nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung einzelner Proteine, einer Auswahl von Proteinen oder aller Proteine, die in der Tabelle 2 genannt sind, beruhen.
8. Werkzeuge nach den Ansprüchen 6 und 7, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung von Teilsequenzen einzelner Proteine, einer Auswahl von Proteinen oder aller Proteine, die in der Tabelle 1 genannt sind, beruhen. 15
9. Werkzeuge nach den Ansprüchen 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass sie Proteinen oder Protein-Teilsequenzen einbeziehen, die in ihrer Sequenz identisch zu den in der Tabelle 1 abgeleiteten Proteinen oder den in der Tabelle 2 genannten Proteinen sind oder mindestens 80% Sequenzidentität besitzen.
10. Werkzeuge nach den Ansprüchen 6 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung eines
 - 10.1. High-Throughput Verfahrens in der Protein-Expressionsanalytik (hochauflösende, zweidimensionale Protein-Gelelektrophorese, MALDI-Techniken),
 - 10.2. High-Throughput Verfahrens in der Protein-Spotting Technik (Protein Arrays) zum Screening von Autoantikörpern als diagnostisches Werkzeug für entzündliche Gelenkerkrankungen und andere entzündliche, infektiöse oder tumoröse Erkrankungen beim Menschen,
 - 10.3. von High-Throughput Verfahren in der Protein-Spotting Technik (Protein Arrays) zum Screening von autoreaktiven T-Zellen als diagnostisches Werkzeug für entzündliche Gelenkerkrankungen und andere entzündliche, infektiöse oder tumoröse Erkrankungen beim Menschen, 25
 - 10.4. von Nicht-High-Throughput Verfahren in der Protein-Spotting Technik zum Screening von autoreaktiven T-Zellen als diagnostisches Werkzeug für entzündliche Gelenkerkrankungen und andere entzündliche, infektiöse oder tumoröse Erkrankungen beim Menschen, 30
 beruhen.
11. Werkzeuge nach den Ansprüchen 6 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung von Antikörpern, die spezifisch für Proteine oder Teilsequenzen sind, die unter den Ansprüchen 6 bis 9 aufgeführt sind, beruhen.
12. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung der entsprechenden homologen Sequenzen einer anderen Spezies zur Analytik in Tierexperimenten oder zur Diagnostik bei Tieren mit entzündlichen Gelenkerkrankungen und anderen entzündlichen, infektiösen oder tumorösen Erkrankungen beruhen. 35
13. Werkzeuge nach den Ansprüchen 6 bis 11 als diagnostische Werkzeuge zum Nachweis genetischer Veränderungen (Mutationen) in den unter Anspruch 1 bis 3 genannten Genen oder deren Regulationssequenzen (Promotor, Enhancer, Silencer, spezifische Sequenzen für die Bindung weiterer regulatorischer Faktoren). 40
14. Werkzeuge nach den Ansprüchen 6 bis 11 und 13 zum Nachweis genetischer Veränderungen (Mutationen) in den Genen oder deren Regulationssequenzen (Promotor, Enhancer, Silencer, spezifische Sequenzen für die Bindung weiterer regulatorischer Faktoren), die für die in der Tabelle 2 genannten Proteine codieren.
15. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 zur molekularen Definition entzündlicher Gelenkerkrankungen und anderer entzündlicher, infektiöser oder tumoröser Erkrankungen beim Menschen unter Verwendung der in Anspruch 1–3 benannten Gene, DNA-Sequenzen oder davon abgeleitete Proteine oder Peptide sowie der Proteine und Protein-Teilsequenzen aus Anspruch 6 bis 9 oder den dafür codierenden Gensequenzen. 45
16. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 zum Therapie-Entscheid entzündlicher Gelenkerkrankungen und anderer entzündlicher, infektiöser oder tumoröser Erkrankungen beim Menschen unter Verwendung der in Anspruch 1–3 benannten Gene, DNA-Sequenzen oder davon abgeleitete Proteine oder Peptide. 50
17. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 zur Verlaufskontrolle/Therapiekontrolle entzündlicher Gelenkerkrankungen und anderer entzündlicher, infektiöser oder tumoröser Erkrankungen beim Menschen unter Verwendung der in Anspruch 1–3 benannten Gene, DNA-Sequenzen oder davon abgeleitete Proteine oder Peptide.
18. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 als molekulare Werkzeuge zur Entwicklung von Therapiekonzepten, die die direkte oder indirekte Beeinflussung der Expression der in Anspruch 1–3 benannten Gene oder Gensequenzen beinhalten. 55
19. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 und 18 zur Entwicklung von Therapiekonzepten, die die direkte oder indirekte Beeinflussung der Expression der in Anspruch 6 bis 9 benannten Proteine oder Protein-Teilsequenzen beinhalten.
20. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 und 18 bis 19 zur Entwicklung von Therapiekonzepten, die die direkte oder indirekte Beeinflussung der autoreaktiver T-Zellen gerichtet gegen die in Anspruch 8–11 benannten Proteine oder Protein-Teilsequenzen beinhalten. 60
21. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 und 18 bis 20 zur Beeinflussung der biologischen Wirkung der aus den in Anspruch 1–3 benannten Gensequenzen abgeleiteten Proteine.
22. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 und 18 bis 21 zur Beeinflussung der unmittelbaren molekularen Regelkreise, in die die in Anspruch 1–3 benannten Gene und davon abgeleiteten Proteine eingebunden sind. 65
23. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 und 18 bis 22 zur Entwicklung von Therapiekonzepten unter Design und Verwendung von Interpretationsalgorithmen, die die genannten Gene und Sequenzen und deren Regulations-

mechanismen verwenden, um Therapiekonzepte, -wirkungen, -optimierungen oder Krankheitsprognosen erkennen zu lassen oder vorausszusagen.

24. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 und 18 bis 22 zur Entwicklung von biologisch wirksamen Medikamenten (Biologicals) unter Verwendung von Genen, Gensequenzen, Regulation von Genen oder Gensequenzen, oder unter Verwendung von Proteinen, Proteinsequenzen; Fusionsproteinen nach Ansprüchen 1 bis 3 und 6 bis 9 oder unter Verwendung von Antikörpern oder autoreaktiven T-Zellen nach Ansprüchen 10–14.

25. Verwendung von Werkzeugen nach den Ansprüchen 1 bis 24 zur

25.1. Untersuchung von Blutproben oder Gewebeprobe in der medizinischen Diagnostik,

25.2. Anwendung in der Analytik nach Beispiel 1,

25.3. Anwendung für Therapiekonzepte nach Beispiel 2.

Anwendungsbeispiele

Beispiel 1

Anwendung in der Analytik

- Diagnosestellung der chronischen Gelenkerkrankungen anhand molekularer Veränderungen,
- Charakterisierung der chronischen Gelenkerkrankungen anhand molekularer Veränderungen,
- Ableitung ätiologischer Pathogenitätsprinzipien bei bislang unklaren chronisch entzündlichen Erkrankungen.

Beispiel 2

Anwendung für Therapiekonzepte

- Gentherapie,
- Biologicals,
- Chemicals,
- Agonisten,
- Antagonisten (Ribozym, Antisens-RNA, lösliche Rezeptoren, etc.),
- Triggerung entsprechender Rezeptoren,
- Hemmung der Rezeptoren,
- Verwendung löslicher Rezeptoren zur Hemmung löslicher Signalvermittler,
- aus den Sequenzen abgeleitete Peptide, mutierte Proteine, mutierte Peptide oder Fusionsproteine (abgeleitete Peptide/Proteinbruchstücke fusioniert an Antikörperfragmente).

Begriffsdefinitionen

- Array,
- Array-Hybridisierung,
- High-Throughput Technologie,
- Patientenprobe,
- Kontrollprobe,
- Polymerase-Ketten-Reaktion und (Semi-)Quantifizierung,
- representational difference analysis (Ref angeben),
- unmittelbare molekulare Regelkreise: unter den molekularen Regelkreisen eines Genprodukts sind zu verstehen 1) das Genprodukt induzierende Botenstoffe, 2) dazugehörige Rezeptoren, 3) intrazelluläre Botenstoffe und Promotorbindungs-moleküle, die die Expression des Genprodukts bewirken, 4) durch das Genprodukt unmittelbar nachgeschaltete Effektormoleküle, die selbst z. B. Botenstoffe, Enzyme oder Matrixbestandteile sein können,
- MALDI-Techniken,
- hochauflösende, zweidimensionale Protein-Gelelektrophorese.

Patentansprüche

1. Werkzeuge zur Diagnostik, molekularen Definition und Therapieentwicklung chronischer entzündlicher Gelenkerkrankungen und anderer entzündlicher, infektiöser oder tumoröser Erkrankungen beim Menschen unter Verwendung der Sequenzen einzelner Gene, einer Auswahl von Genen oder aller Gene, die in der Tabelle 1 genannt sind, sowie der Gene die für die Proteine, die in der Tabelle 2 genannt sind, codieren.

2. Werkzeuge nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sie Gensequenzen einbeziehen, die in ihrer Sequenz identisch zu den in der Tabelle 1 genannten Genen bzw. zu den Genen, die für die in der Tabelle 2 genannten Proteine codieren, sind oder mindestens 80% Sequenzidentität in den Protein-kodierenden Abschnitten besitzen.

3. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass sie Sequenzabschnitte oder Teilsequenzen einbeziehen, die in ihrer Sequenz identisch sind zu den in der Tabelle 1 genannten und unter Anspruch 2 fallenden Genen, oder eine Sequenzidentität von mindestens 80% zu den entsprechenden Abschnitten der genannten Gene besitzen.

4. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung eines

- 4.1. High-Throughput Verfahrens der (Micro-)Array-Hybridisierung,
- 4.2. High-Throughput Verfahrens mit Techniken der Polymerase-Ketten-Reaktion zur (Semi-)Quantifizierung, beruhen.
5. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung einer markierten Patientenprobe und einer zweiten unterschiedlich markierten Kontrollprobe zur vergleichenden Doppel-Hybridisierung an einen (Micro-)Array zusammen mit der Patientenprobe (rot/grün Vergleichs-Hybridisierung) beruhen. 5
6. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 für diagnostische Zwecke, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung einzelner, einer Auswahl oder aller aus den Gensequenzen in Anspruch 1 bis 3 abgeleiteten Proteine bzw. Peptide beruhen.
7. Werkzeuge nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung einzelner Proteine, einer Auswahl von Proteinen oder aller Proteine, die in der Tabelle 2 genannt sind, beruhen. 10
8. Werkzeuge nach den Ansprüchen 6 und 7, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung von Teilsequenzen einzelner Proteine, einer Auswahl von Proteinen oder aller Proteine, die in der Tabelle 1 genannt sind, beruhen.
9. Werkzeuge nach den Ansprüchen 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass sie Proteine oder Protein-Teilsequenzen einbeziehen, die in ihrer Sequenz identisch zu den in der Tabelle 1 abgeleiteten Proteinen oder den in der Tabelle 2 genannten Proteinen sind oder mindestens 80% Sequenzidentität besitzen. 15
10. Werkzeuge nach den Ansprüchen 6 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung von
- 10.1. High-Throughput Verfahren in der Protein-Expressionsanalytik (hochauflösende, zweidimensionale Protein-Gelelektrophorese, MALDI-Techniken), 20
- 10.2. High-Throughput Verfahren in der Protein-Spotting Technik (Protein Arrays) zum Screening von Autoantikörpern als diagnostisches Werkzeug für entzündliche Gelenkerkrankungen und andere entzündliche, infektiöse oder tumoröse Erkrankungen beim Menschen,
- 10.3. High-Throughput Verfahren in der Protein-Spotting Technik (Protein Arrays) zum Screening von autoreaktiven T-Zellen als diagnostisches Werkzeug für entzündliche Gelenkerkrankungen und andere entzündliche, infektiöse oder tumoröse Erkrankungen beim Menschen, 25
- 10.4. Nicht-High-Throughput Verfahren in der Protein-Spotting Technik zum Screening von autoreaktiven T-Zellen als diagnostisches Werkzeug für entzündliche Gelenkerkrankungen und andere entzündliche, infektiöse oder tumoröse Erkrankungen beim Menschen
- beruhen. 30
11. Werkzeuge nach den Ansprüchen 6 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung von Antikörpern, die spezifisch für Proteine oder Teilsequenzen sind, die unter den Ansprüchen 6 bis 9 aufgeführt sind, beruhen.
12. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass sie auf der Verwendung der entsprechenden homologen Sequenzen einer anderen Spezies zur Analytik in Tierexperimenten oder zur Diagnostik bei Tieren mit entzündlichen Gelenkerkrankungen und anderen entzündlichen, infektiösen oder tumorösen Erkrankungen beruhen. 35
13. Werkzeuge nach den Ansprüchen 6 bis 11 als diagnostische Werkzeuge zum Nachweis genetischer Veränderungen (Mutationen) in den unter Anspruch 1 bis 3 genannten Genen oder deren Regulationssequenzen (Promotor, Enhancer, Silencer, spezifische Sequenzen für die Bindung weiterer regulatorischer Faktoren).
14. Werkzeuge nach den Ansprüchen 6 bis 11 und 13 zum Nachweis genetischer Veränderungen (Mutationen) in den Genen oder deren Regulationssequenzen (Promotor, Enhancer, Silencer, spezifische Sequenzen für die Bindung weiterer regulatorischer Faktoren), die für die in der Tabelle 2 genannten Proteine codieren. 40
15. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 zur molekularen Definition entzündlicher Gelenkerkrankungen und anderer entzündlicher, infektiöser oder tumoröser Erkrankungen beim Menschen unter Verwendung der in Anspruch 1–3 benannten Gene, DNA-Sequenzen oder davon abgeleitete Proteine oder Peptide sowie der Proteine und Protein-Teilsequenzen aus Anspruch 6 bis 9 oder den dafür codierenden Gensequenzen. 45
16. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 zum Therapie-Entscheid entzündlicher Gelenkerkrankungen und anderer entzündlicher, infektiöser oder tumoröser Erkrankungen beim Menschen unter Verwendung der in Anspruch 1–3 benannten Gene, DNA-Sequenzen oder davon abgeleitete Proteine oder Peptide.
17. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 zur Verlaufskontrolle/Therapiekontrolle entzündlicher Gelenkerkrankungen und anderer entzündlicher, infektiöser oder tumoröser Erkrankungen beim Menschen unter Verwendung der in Anspruch 1–3 benannten Gene, DNA-Sequenzen oder davon abgeleitete Proteine oder Peptide. 50
18. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 als molekulare Werkzeuge zur Entwicklung von Therapiekonzepten, die die direkte oder indirekte Beeinflussung der Expression der in Anspruch 1–3 benannten Gene oder Gensequenzen beinhalten. 55
19. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 und 18 zur Entwicklung von Therapiekonzepten, die die direkte oder indirekte Beeinflussung der Expression der in Anspruch 6 bis 9 benannten Proteine oder Protein-Teilsequenzen beinhalten.
20. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 und 18 bis 19 zur Entwicklung von Therapiekonzepten, die die direkte oder indirekte Beeinflussung der autoreaktiver T-Zellen, gerichtet gegen die in Anspruch 8–11 benannten Proteine oder Protein-Teilsequenzen, beinhalten. 60
21. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 und 18 bis 20 zur Beeinflussung der biologischen Wirkung der aus den in Anspruch 1–3 benannten Gensequenzen abgeleiteten Proteine.
22. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 und 18 bis 21 zur Beeinflussung der unmittelbaren molekularen Regelkreise, in die die in Anspruch 1–3 benannten Gene und davon abgeleiteten Proteine eingebunden sind. 65
23. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 und 18 bis 22 zur Entwicklung von Therapiekonzepten unter Design und Verwendung von Interpretationsalgorithmen, die die genannten Gene und Sequenzen und deren Regulationsmechanismen verwenden, um Therapiekonzepte, -wirkungen, -optimierungen oder Krankheitsprognosen erkennen

zu lassen oder vorauszusagen.

24. Werkzeuge nach den Ansprüchen 1 bis 5 und 18 bis 22 zur Entwicklung von biologisch wirksamen Medikamenten (Biologicals) unter Verwendung von Genen, Gensequenzen, Regulation von Genen oder Gensequenzen, oder unter Verwendung von Proteinen, Proteinsequenzen, Fusionsproteinen nach Ansprüchen 1 bis 3 und 6 bis 9 oder unter Verwendung von Antikörpern oder autoreaktiven T-Zellen nach den Ansprüchen 10–14.

25. Verwendung von Werkzeugen nach den Ansprüchen 1 bis 24 zur

25.1. Untersuchung von Blutproben oder Gewebeproben in der medizinischen Diagnostik,

25.2. Anwendung in der Analytik nach Beispiel 1,

25.3. Anwendung für für Therapiekonzepte nach Beispiel 2.